Aus dem Universitäts-Röntgeninstitut zu Frankfurt a. M.
(Direktor: Prof. Dr. H. Holfelder)

Über die Kultivierung von Paramecium caudatum, die Veraschung der gezüchteten Klone und die Abwandlung des Gesamtaschenbildes unter der Einwirkung von Röntgenstrahlen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
in der Gesamten Medizin der Hohen Medizinischen
Fakultät der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität
zu Frankfurt a. M.

vorgelegt von

Rupprecht Roth

aus Obernburg a. Main
z. Z. im Felde

Frankfurt a. M. 1942
Gedruckt bei Otto v. Holten in Berlin

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Einzellige Lebewesen, Protozoen und Bakterien sind an und für sich ungeeignete Objekte, um die Wirkung von Röntgenstrahlen nachzuweisen. Alle Autoren, die sich mit der Röntgenbestrahlung von Einzellern befaßt haben, kommen übereinstimmend zu dem Ergebnis, daß unverhältnismäßig hohe Strahlenmengen nötig sind, um eine sichere Beeinflussung der Zellen nachzuweisen. Um die Wirkung von Röntgenstrahlung auf Einzeller deutlicher zu machen, hat man daher u. a. zu Versuchsanordnungen gegriffen, bei denen die Lebewesen in ein für sie schädliches Milieu gebracht wurden, und hat an den dadurch primär geschädigten Einzellern nunmehr mit verhältnismäßig niedrigen Röntgenstrahlendosen eine Wirkung der Bestrahlung aufzeigen können.

Wenn hier nun trotzdem einzellige Lebewesen als Versuchsobjekte verwendet wurden, so deshalb, weil die Umweltbedingungen für die einzellige Zelle gegeben sind und genormt werden können. Außerdem ist der Einzeller frei von jeder wechselseitigen Beeinflussung, die in einem Zellverband durch die anliegenden Nachbarzellen immer gegeben ist und deren Einfluß nicht exakt abzuwägen ist. Insofern ist das einzellige Lebewesen im Vergleich zum Vielzeller das ideale Untersuchungsobjekt. Es kommt hinzu, daß man sogar die Umwelt, in die man die einzelligen Lebewesen bringen will, mit Röntgenstrahlen vorbehandeln kann. Bis zu einem gewissen Grade kann man auch umgekehrt auf Zellhaufen von

Einzellern nach Abgießen der Flüssigkeit, die für sie die Umwelt bedeutet, für kurze Zeit Röntgenstrahlen einwirken lassen und sie dann wieder in ein mit Röntgenstrahlen vorbehandeltes oder auch nichtbestrahltes Milieu setzen.

Über die biologische Wirkung der Röntgenstrahlen, insbesondere über ihren Angriffspunkt in der Zelle und über Beeinflussung des Zellstoffwechsels, liegt ein lückenloses Wissen noch nicht vor. Während die moderne Physik lehrt, daß ein Röntgenstrahl beim Auftreffen auf die Materie seine Schwingungsenergie an die Bausteine des Atoms, die Elektronen, abgibt und es zu dem physikalischen Vorgang der Bildung von Photo- und Comptonelektronen kommt, so finden biologisch gesehen beim Auftreffen von Röntgenstrahlen auf die Zelle chemische bzw. kolloidchemische Umwandlungen statt, über die noch keine völlige Klarheit herrscht. Im wesentlichen sind nur die Absorptionsvorgänge am Atom und das jeweilig histologische Zustandsbild der Röntgenstrahleneinwirkung im mikroskopischen Bild bekannt. Das Bindeglied zwischen den beiden, das Zellgeschehen, welches sich nach der Herausprengung der Elektronen in den Eiweißmolekülen abspielt und die eigentliche biologische Wirkung der Röntgenstrahlen darstellt, ist bislang noch ungeklärt.

So wurde versucht, mit Hilfe des Veraschungsverfahrens eine evtl. vorhandene Beeinflussung des Mineralstoffwechsels beim Einzeller unter der Röntgenstrahleneinwirkung nachzuweisen.

Nach den von F. Berner[1] gegebenen Anregungen und in Zusammenarbeit mit ihm wurde zunächst die Aufzucht reiner Parameciенstämme, sog. Klone, versucht, da nur solche ein exaktes Ausgangsmaterial für die vorzunehmenden Bestrahlungsversuche abgeben konnten. Zur Vornahme der Versuche wurde daher die nachstehend beschriebene Züchtungsmethode für das Paramecium caudatum entwickelt.

Die ursprünglichen Paramecien wurden aus einer Heuinfusion gewonnen. Zehn Infusionsgläser von etwa 1 Liter Inhalt wurden mit Glasdeckeln geschlossen auf dem Fensterbrett dem Tageslicht ausgesetzt. Nach einigen Tagen ging das Heu in Fäulnis über und gleichzeitig entwickelte sich die Infusorienwelt. Es kam zu einer wechselnden Fauna in den Zuchtgläsern, bei der im wesentlichen die nachfolgenden Infusoriengenerationen die bereits vorhandenen verdrängten oder vernichteten. Nach etwa 8 bis 10 Tagen fanden sich dann in einigen Infusionsgläsern in der obersten Schicht, und zwar im Zentrum und nicht allzu zahlreich, Exemplare von Pantoffeltierchen (Paramecium caudatum), die das Ausgangsmaterial für die Zucht darstellten. Von diesen Paramecien wurden jeweils mit der Pipette einige Zellen, möglichst unter Vermeidung der Mitverschleppung anderer Infusorien, auf einen Objektträger gebracht. Dieser Objektträger wurde dann mitsamt seinen Paramecien in eine Petrischale gelegt, die mit der nachfolgend beschriebenen Nährflüssigkeit be-

[1] F. Berner, Strahlenther. 71 (1942): 1—60.

schickt war. Es wurde derart der Grundstock zu einer neuen Kultur, und zwar zu einer Mischkultur gebildet.

Die Nährflüssigkeit bestand aus zwei Lösungen, einmal aus stark gefiltertem Aquariumwasser, zum anderen aus einem Auszug von Taubenmist.

Das Aquariumwasser wurde aus einem Wasserpest enthaltenden Aquarium genommen, das frei von Fischen, Kaulquappen, Schnecken oder anderen Tieren war. Es wurde durch ein vierfaches Filtrierpapier unter einfachem hydrostatischem Druck gefiltert, ehe es als Nährlösung Verwendung fand.

Der Auszug aus Taubenmist wurde aus einem etwa walnußgroßen Stück Taubenmist hergestellt, das in etwa 1 Liter Wasser gebracht und unter Abdeckung mit einer Glasplatte ins Freie gestellt und dem Tageslicht ausgesetzt wurde. Hierbei löste sich der Taubenmist auf und färbte das Wasser gelblich. Nach 24 Stunden wurde der so gewonnene Auszug ebenfalls durch ein vierfaches Filtrierpapier gefiltert. Um eine möglichst gleiche Qualität des Taubenmistes zu erreichen, wurde nur Mist von wenigen Tieren einer Rasse genommen, die ein Brieftaubenzüchter besaß und die immer in der gleichen Weise gefüttert wurden. Der Auszug wurde täglich frisch gewonnen; zur Ernährung der Kulturen nicht verwendete Lösung wurde weggeschüttet. Ehe die beiden Lösungen als Nährflüssigkeit den Kulturen zugesetzt wurden, wurden sie jeweils unter dem Mikroskop geprüft. Fanden sich hierbei noch mühelos zahlreiche Bakterien, so wurden die Lösungen nochmals filtriert. Täglich wurden den Kulturen 30 Tropfen der Nährflüssigkeit, die aus einer Mischung der beiden Nährlösungen bestand, zugesetzt.

Für die Durchführung der Bestrahlungsversuche war es unbedingt erforderlich, reine Stämme, sog. „Klone", zu besitzen. Es konnten laufend also nur solche Zellen bestrahlt werden, die durch Abstammung von einem Tier eine im wesentlichen gleiche Widerstandsfähigkeit bzw. Reaktionslage gegenüber der Röntgenstrahleneinwirkung besaßen. Dies war notwendig, um die biologische Streuung, die stets vorhanden ist, weitestgehend zu vermindern.

Die Einzeller, die zur Züchtung eines Klons entnommen wurden, wurden aus der jeweils „besten" Mischkultur gefangen. Für die Güte einer Mischkultur war dabei die rasche Vermehrung sowie das Freisein der Kultur von anderen Infusorienarten maßgebend. Das Herausfangen der Pantoffeltierchen aus einem Tropfen der Mischkultur wurde mit unbewaffnetem Auge unter Zuhilfenahme einer fein ausgezogenen Pipette vorgenommen. Zu diesem Zweck gibt man einen Tropfen der Mischkultur auf den Objektträger, der seinerseits auf dem Deckel einer Petrischale liegt. Durch die doppelte Brechung des Fensterlichtes an Petrischale und Objektträger werden die Paramecien gut sichtbar und das Herausfangen des einzelnen Parameciums wird wesentlich erleichtert. Die Kontrolle, ob tatsächlich nur ein einzelnes Paramecium von der Pipette aufgenommen worden war, wurde mit einer 13 Dioptrien starken Lupe vorgenommen.

Kleine Glasröhrchen von 5 cm Länge und 6 mm Durchmesser wurden mit einem Tropfen der oben beschriebenen Nährflüssigkeit beschickt und erhielten nun jeweils ein einzeln herausgefangenes Paramecium. Auch hier wieder wurde mit Lupenkontrolle gearbeitet. Sobald das Paramecium eingebracht war, wurden die Glasröhrchen 1 cm hoch mit Nährflüssigkeit gefüllt und nach 24 Stunden wurde Nährflüssigkeit bis zu 2 cm eingebracht. Schon nach wenigen Tagen waren reine Paramecienstämme gewachsen. Die Öffnung der Glas-

röhrchen wurde mit einem durch die Flamme gezogenen Wattebausch verschlossen. Verdunstete Flüssigkeit wurde durch tägliche Zuführung von 1 bis 2 Tropfen Nährflüssigkeit ergänzt. Die so gewonnenen Klone vermehrten sich binnen weniger Tage so weit, daß ihre weitere Züchtung nur in größeren Versuchsgläsern von etwa $^1/_2$ Liter Fassungsvermögen möglich war. Zu diesem Zwecke wurden größere Mengen Nährflüssigkeit hergestellt und auf 5 bis 6 Zuchtgläser verteilt, in welche die in den kleinen Glasröhrchen gezüchteten reinen Stämme gegossen wurden. Dabei wurde darauf geachtet, daß der Züchtungsraum eine konstante Temperatur von 20° C besaß und die Gläser den ganzen Tag über nur ein gedämpftes Tageslicht erhielten. Die so gewonnenen reinen Kulturen wurden täglich mit 15 cm^3 Taubenmistauszug auf $^1/_6$ Liter Kulturflüssigkeit versorgt und bekamen außerdem jeden zweiten Tag $^1/_3$ ihres Bestandes an frisch zubereiteter Nährflüssigkeit unter Abmessung einer entsprechenden Menge ihres bisherigen Inhalts zugeführt. Da die Einzeller beständig Nahrung benötigten, mußte täglich für Zuführung neuer Nährlösung gesorgt werden. Der Ausscheidung toxisch wirkender Abbaustoffe wurde durch Zuführung von Frischwasser in bestimmten Zeitabständen zur Entgiftung und Verbesserung des Lebensraumes der Kulturen entgegengewirkt.

Jeden zweiten Tag wurden neue Kulturen angelegt, die nun nicht mehr aus den in kleinen Glasröhrchen aus Eliminierung eines Einzeltieres gezüchteten Reinkulturen gewonnen wurden, sondern deren Einzelexemplare jeweils aus dem besten vorhandenen großen Klon stammten. Der Vorgang war dabei genau der gleiche wie bei der ursprünglichen Anlage der Klone.

So wurden durch viele Generationen hindurch Klone von Klonen gewonnen, ehe mit den Bestrahlungs- und Veraschungsversuchen begonnen wurde.

Die Röntgenbestrahlung der nach der ausführlich beschriebenen Kulturmethode gewonnenen Paramecienstämme wurde an zwei Apparaturen durchgeführt.

Es wurden verwendet: eine Siemens-Tuto-Hochstrom-Apparatur, die mit 185 kV und 15 mA arbeitete und beim Abstand von 20 cm vom Fokus zum Objekt eine Strahlenausbeute von 1480 r/min lieferte. Es wurde ohne Filter bestrahlt, jedoch besaß die verwendete Röntgenröhre einen Eigenfilterwert von etwa 0,15 mm Cu. Außerdem wurde mit dem Nahbestrahlungsgerät nach Prof. Chaoul gearbeitet, das mit einer Spannung von 54,5 kV bei 4 mA in einem Abstand vom Fokus—Objekt von 4 mm eine Ausbeute von 1225 r/min lieferte.

Ein Uhrglasschälchen aus Quarzglas von 5 cm Durchmesser wurde in der Mitte des Tubusansatzringes der Hochstromapparatur oder unter der Chaoul-Röhre der Strahlenwirkung ausgesetzt. Nach jeweils 30 Minuten Strahleneinwirkung wurde zur Schonung der Röhren die Bestrahlung auf einige Minuten unterbrochen.

Während dieser Pausen konnten mit der Pipette leicht einige Tropfen der Paramecienflüssigkeit entnommen und unter dem Mikroskop be-

trachtet werden. Zu jedem Bestrahlungsversuch wurde immer nur die Hälfte eines Klons verwendet, während die andere Hälfte als Kontrolle nicht mitbestrahlt wurde. Dabei war es selbstverständlich, daß bestrahlte und unbestrahlte Hälften der Klone unter genau den gleichen Untersuchungsbedingungen gehalten wurden.

Ermittlung der Tötungsdosis

Die Bestrahlung wurde mit Hilfe der Chaoulschen Apparatur durchgeführt. Es wurde jeweils 15 Minuten bestrahlt und dann die Apparatur für 3 Minuten ausgeschaltet. Die Nährlösung der Paramecien wurde während des Versuches zweimal erneuert, und zwar zum letztenmal $^1/_2$ Stunde vor Beendigung des Versuches. Diese Maßnahme war notwendig, um die entstehende Verdunstung der Nährflüssigkeit auszugleichen, da eine Gesamtbestrahlungszeit von 212,5 Minuten notwendig wurde. Nach der Erneuerung der Nährlösung konnte unter dem Mikroskop eine Veränderung im Verhalten der Einzeller nicht beobachtet werden. Insbesondere wurde ein Wiederaufleben der sich bereits im prämortalen Zustand befindlichen Paramecien beim Zugießen der Nährflüssigkeit nicht beobachtet. Diese Tatsache spricht vielleicht dafür, daß die Zellen durch die Röntgenstrahlen direkt beeinflußt wurden und nicht etwa eine durch die Röntgenstrahlen hervorgerufene Veränderung des Milieus die Einzeller sekundär beeinflußte.

Die absolute Bestrahlungszeit bis zum Absterben von rund 95% aller in der Versuchsschale vorhandenen Paramecien betrug 212,5 Minuten = 260313 r.

Die strahlenempfindlichsten Paramecien starben bereits nach 180 Minuten = einer Dosis von 220500 r. Aber nahezu die Gesamtzahl der Paramecien ging während der letzten 20 Minuten des Versuches, also bei Strahlendosen zwischen 235000 r und 260000 r zugrunde.

In den jeweiligen Bestrahlungspausen, die alle 15 Minuten eingeschoben wurden, wurden die Kulturen unter dem Mikroskop betrachtet. Während der ersten Hälfte der Bestrahlungszeit zeigten sich keinerlei sichtbare Veränderungen. In der zweiten Hälfte der Bestrahlungsperiode war ein nur wenig in Erscheinung tretendes Aufquellen der Zellkörper und eine allmählich einsetzende Verlangsamung der Zellbewegungen zu erkennen. Im prämortalen Stadium blähten sich die Mehrzahl der Zellen gewaltig auf und starben dann offenbar sehr rasch ab. In den beiden letzten Bestrahlungspausen konnte man vorwiegend nur noch stark aufgeblähte Zellen sehen, die nur noch ganz geringfügige Bewegungen im Sinne eines Ortswechsels oder im Sinne der Pulsation ihrer Vakuolen erkennen ließen.

Nachdem mit diesem Versuch die Höhe der absoluten Tötungsdosis für einen Klon bestimmt war, wurde dazu übergegangen, die Paramecien zu veraschen.

Das von Liesegang erstmalig angegebene und von O. Schultz-Brauns, L. Schoenholz, F. Hermann, E. Eicken, O. Gans, Gerlach, Monsch, A. Policard, H. Kühtz und von H. Meltzer vervollkommnete Veraschungsverfahren beruht auf einem vorsichtigen stufenweisen Erhitzen histologischer Schnitte, so daß die Ablagerung der Salze innerhalb der Zellkomplexe bestehen bleibt. Der veraschte histologische Schnitt bleibt dabei in seiner charakteristischen histologischen Gewebsstruktur erhalten und liefert ein getreues Abbild der Salzverteilung des betr. Gewebes. Durch bestimmte chemische Reaktionen ist es außerdem möglich, neben dem sog. Gesamtaschenbild auch Spezialaschenbilder, wie das Calcium - Magnesium-, Phosphat- und Eisen-Aschenbild zu erhalten. Dadurch wird die Veraschung zu einer Gewebschemie, die die Lagerung der einzelnen Salze im Gewebe histologisch veranschaulicht und einen Einblick in den Mineralstoffwechsel des betr. Gewebes gewährt.

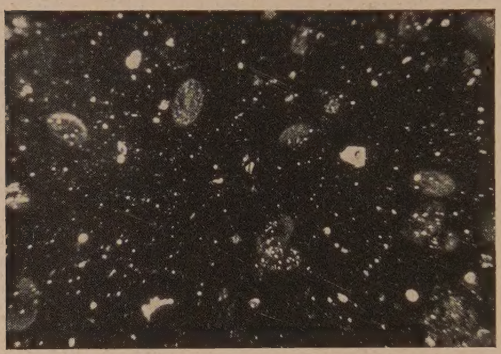

Bild 1

Unbestrahlte, veraschte Tiere. Das Gesamtaschenbild der Paramecien zeigt eine gleichmäßig dichte und feinkörnige Salzverteilung.

Einzellige Lebewesen wurden, soweit bekannt, bisher nicht verascht. Es wurde so vorgegangen, daß die Paramecien mit ihrer Nährlösung auf Objektträger ausgestrichen und dann 3 Stunden an der Luft getrocknet wurden. Darauf wurden die Objektträger in den elektrischen Muffelofen gebracht und dort zunächst $1^1/_2$ Stunden bei 150° C gehalten. Darauf wurde alle 30 Minuten eine Erhöhung der Temperatur um jeweils 50° bis zu einem Temperaturmaximum von 500° C vorgenommen. Auf dieser maximalen Temperaturstufe verblieben die Präparate 5 Stunden im Ofen.

Die so veraschten Paramecien zeigen eine ziemlich gleichmäßige Salzverteilung im Gesamtaschenbild. Die Asche ist gleichmäßig dicht und feinkörnig (Bild 1—3). Da, wo an der lebenden Zelle pulsierende Vakuolen vorhanden waren, sind Aussparungen in der Zellasche. Man erkennt daraus den Grad der Genauigkeit der Wiedergabe der Zell-

struktur, die zwar nicht feinste Einzelheiten, aber doch die „grobe Anatomie" des Zelleibes zur Darstellung bringt.

Nachweis der Beeinflussung des Gesamtaschenbildes beim Paramecium caudatum durch Röntgenbestrahlung

Die Bestrahlung wurde am Tuto-Hochstromgerät unter den weiter oben erwähnten technischen Bedingungen durchgeführt. Es wurde auf die Versuchskultur eine Dosis von 170000 r verabfolgt, die zu keinerlei unter dem Mikroskop äußerlich sichtbaren Veränderungen führten. $^1/_2$ Stunde, 3 Stunden, 11 Stunden und 24 Stunden nach Beendigung der Bestrahlung wurden aus den bestrahlten und unbestrahlten Hälften des Klons Ausstriche auf Objektträgern gemacht und diese nach dem oben angegebenen Veraschungsverfahren verascht. Die Durchführung der Lufttrocknung der Präparate dauerte jeweils 3 Stunden, so daß die Paramecien etwa $3^1/_2$ Stunden, 6 Stunden, 14 Stunden und 27 Stunden nach der Bestrahlung getötet waren.

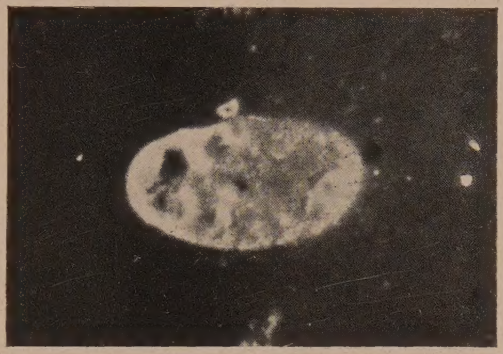

Bild 2

Bild 3

Bild 2 u. 3. Vergrößerte Abbildung von 2 veraschten Einzelzellen. Die großen dunklen Flecke entsprachen bei der lebenden Zelle pulsierenden Vakuolen; sie geben einen Gradmesser für die topographisch genaue Darstellung bestimmter Zellorganellen im Aschenbild.

Gleichzeitig mit den Ausstrichen aus der bestrahlten Hälfte des Klons wurde auch jeweils die gleiche Anzahl Präparate aus der unbestrahlten Hälfte der Kulturen zu den genannten Zeitpunkten entnommen und ebenfalls der Lufttrocknung ausgesetzt. Die Veraschung wurde am nächsten Tag für die gesamte Versuchsreihe gleichzeitig unter den geschilderten Bedingungen vorgenommen. Das Ergebnis, das die beigegebenen Mikrophotos veranschaulichen, war dabei folgendes:

Die Paramecien reagierten innerhalb der ersten 27 Stunden nach erfolgter Bestrahlung mit einer Röntgenstrahlenmenge, die sie äußerlich keineswegs sichtbar schädigte, mit einer rapiden Abnahme ihres Salzgehaltes. Die $3^1/_2$ Stunden nach Beendigung der Bestrahlung von 170 000 r durch Lufttrocknung abgetöteten Zellen zeigten bereits eine deutliche Salzabnahme im Gesamtaschenbild. Die Zellen scheinen im ganzen rundlicher und nicht mehr so oval. Die Aschenkristalle sind grobkörniger und lagern sich offenbar mehr in der Mitte der Zelleiber; entsprechend ist die Abnahme der Salzdichte am Rand der Zellkörper besonders auffallend (Bild 4).

Bei den Zellen, die 6 Stunden nach Beendigung der Bestrahlung durch Lufttrocknung abgetötet wurden, ist die Gesamtsalzabnahme eine viel stärkere und mehr scholliger Art. Auch haben die Zellen die schon erwähnte mehr rundliche Form (Bild 5 und 5a).

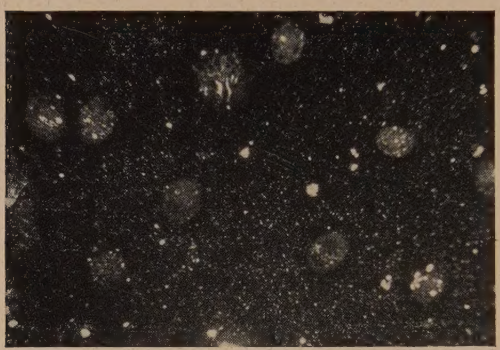

Bild 4

Präparat $3^1/_2$ Stunden nach Bestrahlung. Deutliche Salzabnahme. Beginnende Rundung der Form. Die Aschenkristalle erscheinen grobkörniger. Sie finden sich besonders in der Mitte der Zellen. Die Abnahme der Salzdichte am Rande der Zellkörper ist besonders auffallend.

Bei den Präparaten, deren Paramecien 14 Stunden nach Bestrahlung durch die Lufttrocknung zum Absterben kamen, ist es nur noch schwer möglich, die Zelleiber exakt abzugrenzen. Die schollige Form der Salzablagerung ist augenfällig, die salzfreien Abschnitte innerhalb der Zellumgrenzung, die den pulsierenden Vakuolen entsprechen dürften, scheinen besonders groß (Bild 6). Auf den Präparaten, 27 Stunden nach beendeter Bestrahlung, sind die Paramecien praktisch kaum mehr abzugrenzen. Es scheinen im wesentlichen nur noch Zellfragmente vorhanden zu sein (Bild 7).

Versuche der Beeinflussung des Gesamtaschenbildes von Paramecium caudatum durch Verabfolgung verschieden hoher Röntgenstrahlendosen

Die Paramecien erhielten Strahlendosen von 60000 r, 125000 r und 150000 r. Alle Zellen der gesamten Versuchsreihe wurden 12 Stunden nach Beendigung der Bestrahlung auf Objektträger gebracht, der Luft-

trocknung ausgesetzt und dadurch 15 Stunden nach Beendigung der Bestrahlung getötet.

Bei diesem Versuch hat man den Eindruck, daß die Paramecien auf die steigenden Strahlendosen mit einer stärker werdenden Abnahme ihres Gesamtsalzgehaltes reagieren. Es scheint demnach so, daß die größere Gesamtstrahlenmenge auch die stärkere Salzabnahme im Gefolge hat.

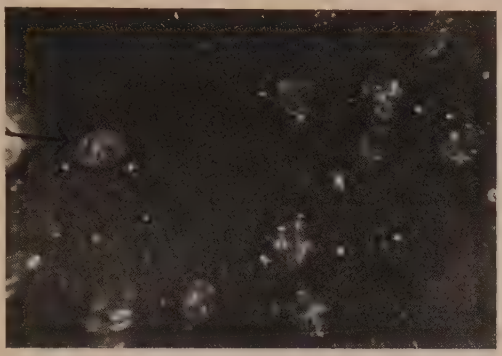

Bild 5
Präparat 6 Stunden nach Beendigung der Bestrahlung. Starke Salzabnahme, mehr rundliche Zellform. Schollige Ablagerung der Salzkristalle.

Bild 8, das veraschte Paramecien nach der Verabfolgung einer Gesamtstrahlenmenge von 60000 r zeigt, läßt wieder die schon im Versuch aufgefallene mehr rundliche Form der Zellen und eine vorwiegend schollige Ablagerung der Salze im Vergleich zu der homogenen Salzverteilung der unbestrahlten Kontrollpräparate (Bild 1 bis 3) deutlich werden. Nach der Verabfolgung von 125000 r und 170000 r erscheint die Abgrenzung der Zellkonturen noch schwieriger erkennbar (Bild 9). Es besteht überdies der Eindruck, daß auch der Gesamtaschengehalt abgenommen hat. Ein Unterschied zwischen den Präparaten nach Gesamtdosen von 125000 r und 170000 r ließ sich jedoch nicht mit Sicherheit feststellen, so daß eine bildmäßige Wiedergabe eines dieser Präparate nicht notwendig ist.

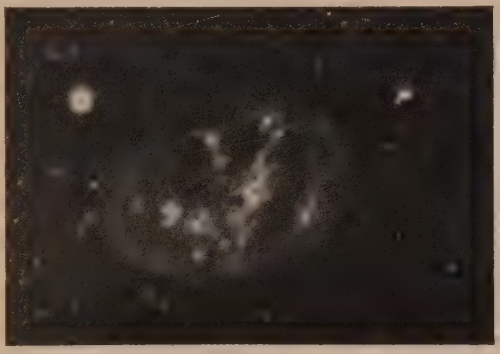

Bild 5a
Großbild des in Bild 5 mit einem Pfeil bezeichneten Paramecium caudatum.

Ergänzend darf bemerkt werden, daß Versuche, eine Vitalfärbung von Paramecium caudatum mit reiner chinesischer Tusche zu erzielen, erfolgreich waren. Die Tusche wurde im Mörser zerstampft und in destilliertem Wasser gelöst. Es wurden dann zwei Tropfen der Tuschelösung auf 2 cm^3 Paramecienflüssigkeit gegeben. Die Tusche-

Bild 6
Präparat mit 14 Stunden nach Bestrahlung abgetöteten Zellen. Die Form der Paramecien ist nur noch angedeutet zu erkennen. Schollige Ablagerung der Salze.

Bild 7
Nach 27 Stunden abgetötete Paramecien. Abgrenzung einzelner Zellen so gut wie unmöglich, es sind offenbar nur noch Zellfragmente vorhanden.

Bild 8
Die Paramecien haben 60000 r erhalten. Die Form ist rundlich. Ablagerung der Salze in großen Schollen.

Bild 9
Präparat nach Verabfolgung von 125000 r. Die Zellkonturen sind praktisch nicht mehr abzugrenzen.

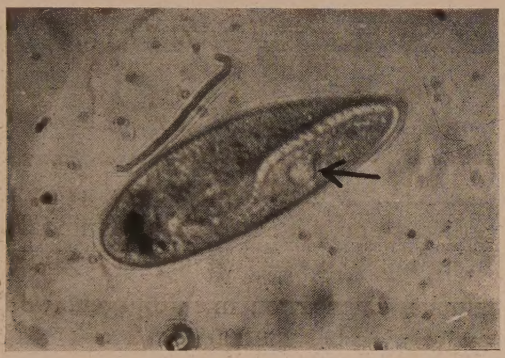

Bild 10a

Bild 10b

Bild 10a u. b. Lebende Paramecien in 500facher Vergrößerung (mit chinesischer Tusche durch Phagozytose gefärbt). Der Pfeil in Bild 10a weist auf eine pulsierende Vakuole.

färbung ist eine Phagozytosefärbung. Die kolloidalen Teilchen wurden in der Darmanlage und in den Vakuolen der Paramecien abgelagert und wanderten dann innerhalb von 15 bis 20 Minuten in das Protoplasma der Paramecien. Es kam so zu einer deutlichen Durchfärbung der Gesamtstruktur. Die große Schwierigkeit, bei den Versuchen eine Vitalfärbung der Pantoffeltierchen zu erreichen, lag in der erheblichen Beweglichkeit der Zellen, die eine genaue Beobachtung der einzelnen Zellen unter dem Mikroskop sehr erschwerten. Es wurde daher versucht, eine Narkotisierung der Zellen herbeizuführen. Am besten bewährte sich die Narkotisierung der Pantoffeltierchen mit Propylalkohol nach Bill. Es ließ sich damit ziemlich leicht eine elektive Hemmung der Beweglichkeit der Zellen erreichen, während offenbar der Rhythmus der Lebensvorgänge im Innern der Zellen wie die Vakuolentätigkeit und die Protoplasmaströmung gut erhalten blieben.

Die beigefügten mikroskopischen Aufnahmen 10a und b zeigen lebende Paramecien in 500facher Vergrößerung. Der Pfeil in Bild 10a weist auf eine pulsierende Vakuole.

Zusammenfassung

Es gelang, reine Klone von Paramecium caudatum zu züchten und die Veraschung dieser einzelligen Lebewesen im elektrischen Muffelofen durchzuführen und somit das Gesamtaschenbild zu erhalten.

Es wurde versucht, einen Klon mit Röntgenstrahlen zu töten. Die absolute Tötungsdosis lag bei 260000 r.

Nach einmaliger Verabfolgung von 160000 r und Tötung der Zellen durch Lufttrocknung mit anschließender Veraschung nach $3^1/_2$ Stunden, 6 Stunden, 14 Stunden und 27 Stunden nach Beendigung der Bestrahlung zeigte sich eine immer mehr in Erscheinung tretende Abnahme des Gesamtsalzgehaltes. Es scheint damit erwiesen, daß die Röntgenstrahlen den Salzstoffwechsel von Paramecium caudatum beeinflussen. Es ist damit gelungen, eine Röntgenstrahleneinwirkung an der Einzelzelle festzustellen, die sich bei Betrachtung der lebenden Zelle unter dem Mikroskop in keiner Weise bemerkbar machte und anscheinend eine reversible Schädigung des Zellstoffwechsels darstellt.

Die Versuche, eine gleiche auffallende Abnahme des Gesamtsalzgehaltes mit verschieden hohen Röntgenstrahlendosen herbeizuführen, ergaben kein in gleicher Weise überzeugendes Ergebnis. Unter Vorbehalt kann man vielleicht hieraus entnehmen, daß der Ablauf der Zellreaktion auf den gesetzten Strahleninsult möglicherweise unabhängig von der Höhe der eingestrahlten Dosis sein kann.

Die Kleinheit des Objektes und seine lebhafte Beweglichkeit erschwerten das exakte Arbeiten und die photographische Wiedergabe. Dies ist im wesentlichen der Grund, warum es nicht mit Sicherheit gelang, das Differentialaschenbild bzw. Calcium- oder Magnesiumaschenbild darzustellen.

Die Vitalfärbung von Paramecium caudatum gelang mit schwarzer chinesischer Tusche.

Schrifttum

Berner, F., Untersuchungen über die Wirkung von Röntgenstrahlen auf den Mineralstoffwechsel von Einzellern mit dem Ziel, einen Bestrahlungsrhythmus zu finden, der Kulturen von Einzellern in möglichst kurzer Zeit bei niedriger Gesamtstrahlenmenge vernichtet. Strahlenther. 71 (1942): 1—60. — Hermann, F., Zur Methode der Veraschung von Gewebsschnitten und der Aschendifferenzierung. Z. Mikrosk. 49 (1932): 313. — Hermann, F., u. E. Eicken, Arch. Derm. 165 (1932): 495. — Liesegang, R. E., Strahlentherapie in kolloidchemischer Betrachtung. In: Med. Kolloidlehre, Dresden 1934. — Liesegang, R., u. E. Liesegang, Beitrag zur Kolloidchemie des Lebens. Biochem. Z. 28: 412. — Meltzer, H., Die mikroskopische Darstellung und Differenzierung des anorganischen Gewebsgerüstes in der Chirurgie. Arch. klin. Chir. 184: 191, 210, 229. — Meltzer, H., u. E. H. Kühtz, Über den Einfluß der Röntgenbestrahlung auf das anorganische Gewebsgerüst der Haut. Strahlenther. 62 (1938): 406—435. — Schultz-Brauns, O., Histotopochemische Untersuchungen an krankhaft veränderten Organen unter Anwendung der Schnittveraschung. Virchows Arch. 273 (1929): 1. — Schultz-Brauns, O., u. Schönholz, Arch. Gynäk. 136: 503. / Virchows Arch. 273 (1929): 1.

42/4